

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Iva Anić

FENOTIPSKA KARAKTERIZACIJA ISPITANIKA OBOLJELIH OD
HASHIMOTOVOG TIREOIDITISA

Diplomski rad

Akadska godina: 2016./2017.

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Vesna Boraska Perica

Split, listopad 2017.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Iva Anić

**FENOTIPSKA KARAKTERIZACIJA ISPITANIKA OBOLJELIH OD
HASHIMOTOVOG TIREOIDITISA**

Diplomski rad

Akadska godina: 2016./2017.

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Vesna Boraska Perica

Split, listopad 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje: Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje: Farmacija
Nastavni predmet: Biologija biljaka i životinja
Tema rada je prihvaćena na sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta i sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta
Mentor: Izv. prof. dr. sc. Vesna Boraska Perica
Pomoć pri izradi: Luka Brčić, mag math.

FENOTIPSKA KARAKTERIZACIJA ISPITANIKA OBOLJELIH OD HASHIMOTOVOG TIREOIDITISA

Iva Anić, broj indeksa: 90

Sažetak:

Ciljevi istraživanja: Detaljno opisati ispitivanu skupinu ljudi oboljelih od HT-a s obzirom na prikupljene fenotipove. Utvrditi postoje li razlike u medijanima fenotipova karakterističnih za HT između ispitanika koji primaju terapiju levotiroksinom i onih koji ne primaju terapiju. Utvrditi postojanje korelacija između fenotipova karakterističnih za HT i ostalih značajnih fenotipova te međusobnih korelacija između fenotipova karakterističnih za HT.

Ustroj istraživanja: Presječno istraživanje

Mjesto istraživanja: Katedra za Medicinsku biologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Materijali i metode: Za izradu ovog diplomskog rada su korišteni podaci koji su dobiveni u okviru HRZZ Uspostavne potpore „Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tiroiditisa“. Formirana je baza podataka o ispitanicima oboljelim od HT-a, koji su prikupljeni u KBC-U Split na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu. Korišteni su podaci o medicinskom statusu ispitanika, kliničkoj klasifikaciji gušće, ultrazvuku štitnjače, terapiji te razinama hormona i protutijela štitnjače (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt). Razine hormona štitnjače (TSH, T3, T4, fT4) i razine protutijela (TgAt, TPOAt) u plazmi sudionika određene su radioimunoesej kvantitativnom metodom. Svi kvantitativni fenotipovi opisani su pomoću medijana i raspona, dok je za kategorijske fenotipove prikazan broj ispitanika i udio (tj. postotak) ispitanika koji pripadaju određenoj kategoriji. Razlike u medijanima testirane su korištenjem neparametrijskog, Mann-Whitney testa. Za testiranje povezanosti promatranih varijabli korišten je Spearmanov test korelacije.

Rezultati: Okarakterizirali smo 405 ispitanika u ovom istraživanju, uzimajući u obzir razine hormona i protutijela štitnjače, antropometrijske karakteristike i pušačke navike. Kao najčešći simptom hipotireoze se javlja slabost (64,7%), a najčešći komorbiditet astma ili alergija (15,5%). Većina ispitanika (85,8%) ima difuznu bolest štitnjače, a 57,7% ispitanika se nalazi u kategoriji 1a koja predstavlja pacijente s palpabilnom štitnjačom koja se ne vidi pri istezanju vrata. Uočili smo i značajne razlike u laboratorijskim vrijednostima razine hormona i protutijela među ispitanicima na terapiji i ispitanicima koji ne primaju terapiju. Kao najznačajniju novu korelaciju koju smo pronašli, izdvajamo pozitivnu korelaciju između TgAt i broja simptoma. Ostali dobiveni rezultati su u skladu s literaturom.

Zaključak: Ovim radom smo, uz detaljnu karakterizaciju ispitivane skupine, dodatno potvrdili dobivene rezultate o HT-u iz prethodnih istraživanja. Prvi smo ukazali na povezanost TgAt i broja simptoma. Našim radom smo pridonijeli osvjetljavanju kliničke slike HT-a i ukazali na prognostičku ulogu protutijela na tijek bolesti.

Ključne riječi: Hashimotov tireoiditis, štitnjača, TSH, TgAt, TPOAt

Rad sadrži: 59 stranica, 6 slika, 9 tablica, 53 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

- | | | |
|----|---|--------------------------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Ante Punda | predsjednik Povjerenstva |
| 2. | doc. dr. sc. Ivana Mudnić | član |
| 3. | izv. prof. dr. sc. Vesna Boraska Perica | član-mentor |

Datum obrane: (27. listopada 2017.)

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35 i Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Split, Croatia

Scientific area: Biomedical sciences
Scientific field: Pharmacy
Course title: Biology of plants and animals
Thesis subject was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. XX as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. XX and Faculty Council of School of Medicine, session no.
Mentor: Vesna Boraska Perica- PhD, associate prof
Technical assistance: Luka Brčić, mag. math.

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF SUBJECTS WITH HASHIMOTO'S THYROIDITIS

Iva Anić, index number: 90

Summary:

Objectives: The main aim of our research was to describe in detail the group of individuals with HT regarding collected/measured phenotypes. The next objective was to determine whether there are differences in medians of HT-specific phenotypes among individuals receiving levothyroxine therapy and those who do not receive therapy. Finally, we aim to determine the correlation between phenotypes characteristic for HT and other significant phenotypes and, also, a correlation between HT-characteristic phenotypes.

Design: Cross-section study

Settings: Department of Medical Biology, University of Split School of Medicine

Materials and methods: For the purposes of this graduate thesis we obtained the data from the HRZZ under the HRZZ Installation Grant "Genome-wide association analysis of Hashimoto's thyroiditis". HT patients were recruited after examination in Outpatient clinic for thyroid disorders at Department of Nuclear Medicine, University Hospital Split. The information on medical status of subjects, clinical classification of goitre, thyroid ultrasound, therapy, and levels of hormones and thyroid antibodies (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt) were used. Thyroid hormones (TSH, T3, T4, fT4) and antibody levels (TgAt, TPOAt) in plasma of participants were determined by radioimmunoassay method. All quantitative phenotypes are described by median and span, while for categorical phenotypes the number of subjects and the percentage of subjects from particular category are shown. Differences in medians were tested using non-parametric, Mann-Whitney test. Spearman's correlation test was used to test the correlation of observed variables.

Results: We have characterized 405 subjects in this study, focusing on hormone levels, thyroid antibodies, anthropometric characteristics and smoking habits. The most common symptom of hypothyroidism in our study is nausea (64,7%), and the most common comorbidity is allergy or asthma (15,5%). Most of the subjects (85.8%) have a diffuse thyroid disease, while 57.7% of respondents belong in category 1a, which corresponds to palpable thyroid that is not visible at the stretching of the neck. We also noted significant differences in laboratory values of hormone levels and antibodies between respondents on therapy and non-therapeutic subjects. As the most significant finding in our study, we highlight the positive correlation between TgAt and the number of symptoms. Other results obtained are consistent with the literature.

Conclusion: We performed a detailed characterization of the group of patients with HT, resulting with additional evidence and confirmations of findings from previous studies. We are the first to point to the newly discovered correlation between TgAt and the number of symptoms. Through our work we have contributed to better understanding of HT's clinical image and pointed out the prognostic value of antibodies with respect to disease severity.

Key words: Hashimoto's thyroiditis, thyroid, TSH, TgAt, TPOAt

Thesis contains: 59 pages, 6 figures, 9 tables, 53 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1.	Ante Punda- PhD, associate prof	Chair person
2.	Ivana Mudnić- PhD, associate prof	Member
3.	Vesna Boraska Perica- PhD, associate prof	Supervisor

Defence date: (October 27. 2017.)

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Rudera Boškovića 35 and Library of School of Medicine, Šoltanska 2.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1 Štitnjača	3
1.2 Hormoni štitnjače.....	3
1.3 Hipotireoza.....	5
1.4 Hashimotov tireoiditis.....	6
1.5 Uzrok HT-a	7
1.6 Dijagnoza HT-a.....	8
1.7 Ultrazvuk štitnjače	8
1.8 Terapija HT-a.....	9
2. CILJEVI	11
3. MATERIJALI I METODE.....	13
3.1 Ispitivana skupina	14
3.1.1 Opis vrijednosti razina hormona i protutijela.....	14
3.1.2 Detaljan opis fenotipova	14
3.1.3 Opis simptoma i komorbiditeta ispitanika	16
3.1.4 Klinička klasifikacija guše i nalaz ultrazvuka štitnjače	17
3.2 Statističke analize	17
4. REZULTATI	19
4.1 Učestalost simptoma hipotireoze i komorbiditeta među ispitanicima	20
4.2 Rezultati nalaza guše	21
4.3 Usporedba laboratorijskih nalaza hormona štitnjače i protutijela	22
4.4 Rezultati korelacija među ispitivanim varijablama	23
4.5 Korelacije volumena štitnjače i pušenja	29
5. RASPRAVA.....	30
5.1 Osnovne fenotipske karakteristike ispitanika	31
5.2 Simptomi.....	31

5.3 Komorbiditeti.....	32
5.4 Rezultati nalaza guše	33
5.5 Laboratorijski nalazi hormona štitnjače i protutijela	33
5.6 Korelacije između fenotipova karakterističnih za HT i ostalih promatranih fenotipova	34
5.7 Međusobne korelacije između fenotipova karakterističnih za HT	36
5.8 Korelacije volumena štitnjače i podataka o pušenju.....	36
6. ZAKLJUČCI	38
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	40
8. SAŽETAK.....	45
9. SUMMARY	48
10. ŽIVOTOPIS	51

Zahvaljujem se svojoj mentorici dr. sc. Vesni Boraska Perica na ukazanom povjerenju, stručnom vođenju i savjetima pri izradi i pisanju ovog diplomskog rada.

Od srca se zahvaljujem svojoj obitelji na nesebičnom razumjevanju, velikoj podršci i ljubavi.

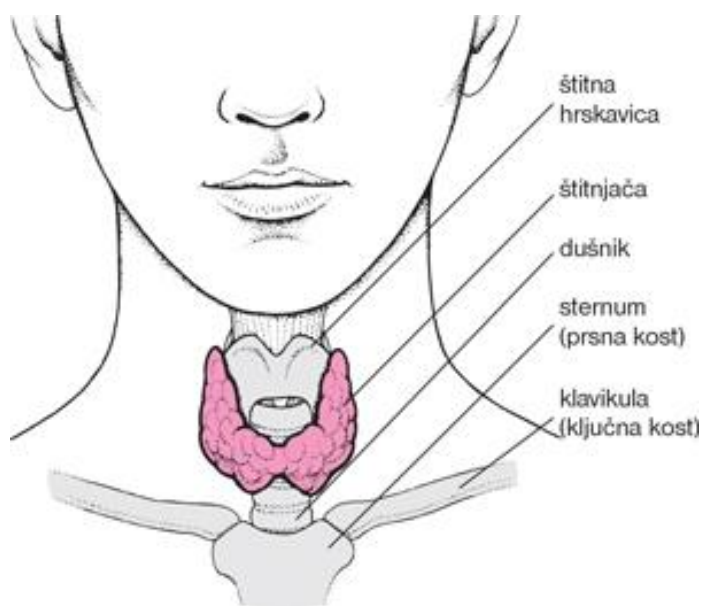
I na kraju, hvala mojim prijateljima zbog kojih će mi ovi studentski dani ostati u najljepšem sjećanju.

U današnje vrijeme bolesti štitnjače su među vodećim endokrinološkim poremećajima, te su se našle na drugom mjestu, odmah iza poremećaja gušterače. Istraživanja su pokazala da između 30% i 40% svih pacijenata s endokrinološkim poremećajima ima neki oblik poremećaja štitnjače [1]. Hashimotov tireoiditis (HT) je jedna od najčešćih autoimunih bolesti kod ljudi. Štoviše, HT je bio prva autoimuna bolest povezana s određenim organom [2], te je dokazano kako je upravo ona vodeći uzrok hipotireoze u zapadnim zemljama.

Prema istraživanju iz 2008. godine, godišnja stopa incidencije HT-a kod žena je 350/100 000, a kod muškaraca 80/100 000 [3]. Smatra se da danas ovaj poremećaj pogađa oko 2% svjetske populacije [4]. Pretpostavlja se da će od 1000 ljudi 1 do 1,5 osoba dobiti ovu bolest u nekom trenutku svog života [5]. S obzirom na relativno nespecifične simptome početnog stadija hipotireoze, često dolazi do pogrešne dijagnoze HT-a kao depresije, sindroma kroničnog umora, fibromijalgije (reumatski poremećaji obilježeni bolovima i osjetljivošću mišića, hvatišta tetiva i okolnih struktura), poremećaja erekcije ili anksioznog poremećaja. Budući da postoji sve više dokaza da je nedijagnosticirana hipotireoza štetna, rana dijagnoza HT-a bi bila od iznimne važnosti u svrhu prevencije hipotireoidizma zbog izostanka adekvatne terapije [6]. Nažalost, još uvijek ne postoji način da se spriječi nastanak HT-a, ali srećom bolest jako dobro reagira na terapiju i drži se pod kontrolom. Uz laboratorijske testove za rano dijagnosticiranje HT-a, znanstvenici pronalaze sve više genetskih i okolišnih čimbenika koji predstavljaju okidače za razvoj ove autoimune bolesti.

1.1 Štitnjača

Štitnjača je jedna od najvećih endokrinih žlijezda u ljudskom organizmu. Sastoji se od dva režnja koja povezuje parenhimski most- isthmus. Smještena je neposredno ispod grkljana, s obje strane dušnika i ispred njega (Slika 1). Sastoji se od velikog broja folikula ispunjenih koloidom, čiji je glavni sastojak tireoglobulin, veliki glikoprotein, koji sadržava hormone štitnjače. Štitnjača luči dva važna hormona, tiroksin (T4) i trijodtironin (T3), koji su metabolički aktivni. Kako bi se održala normalna metabolička aktivnost u tijelu, u svakom se trenutku mora lučiti točno određena količina hormona. Lučenje hormona štitnjače je pod nadzorom tireotropina (TSH), hormona adenohipofize, koji mehanizmom povratne sprege povećava, odnosno koči lučenje hormona. Štitnjača također luči i kalcitonin, koji igra važnu ulogu u metabolizmu kosti [7].

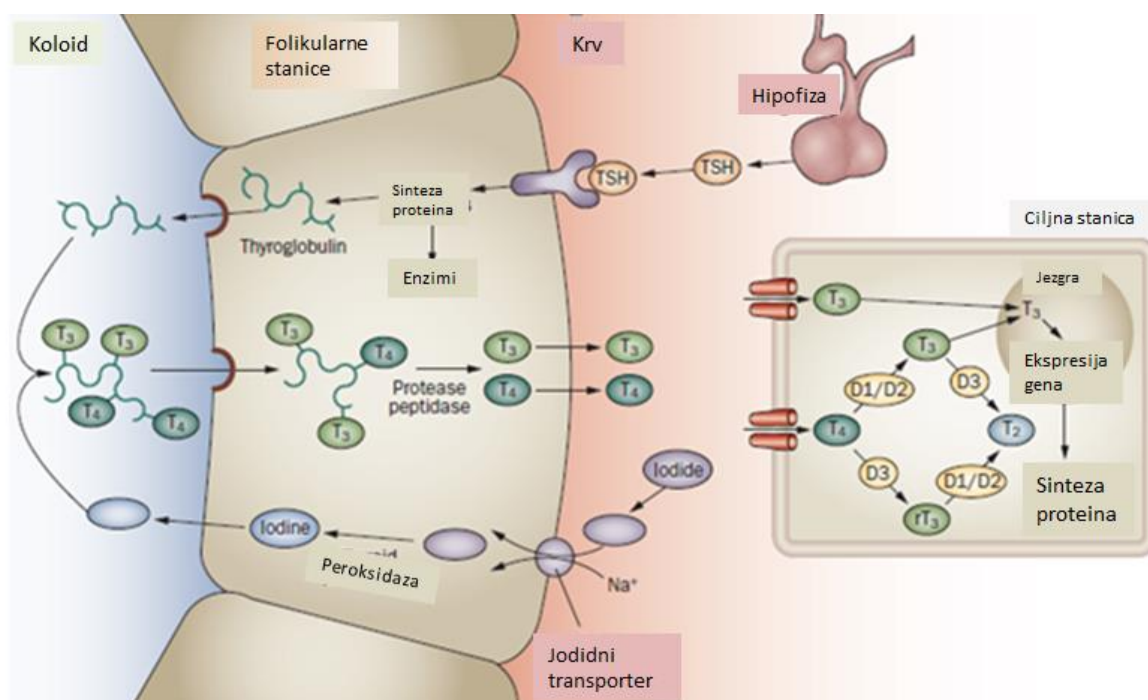


Slika 1. Anatomski smještaj štitnjače [8]

1.2 Hormoni štitnjače

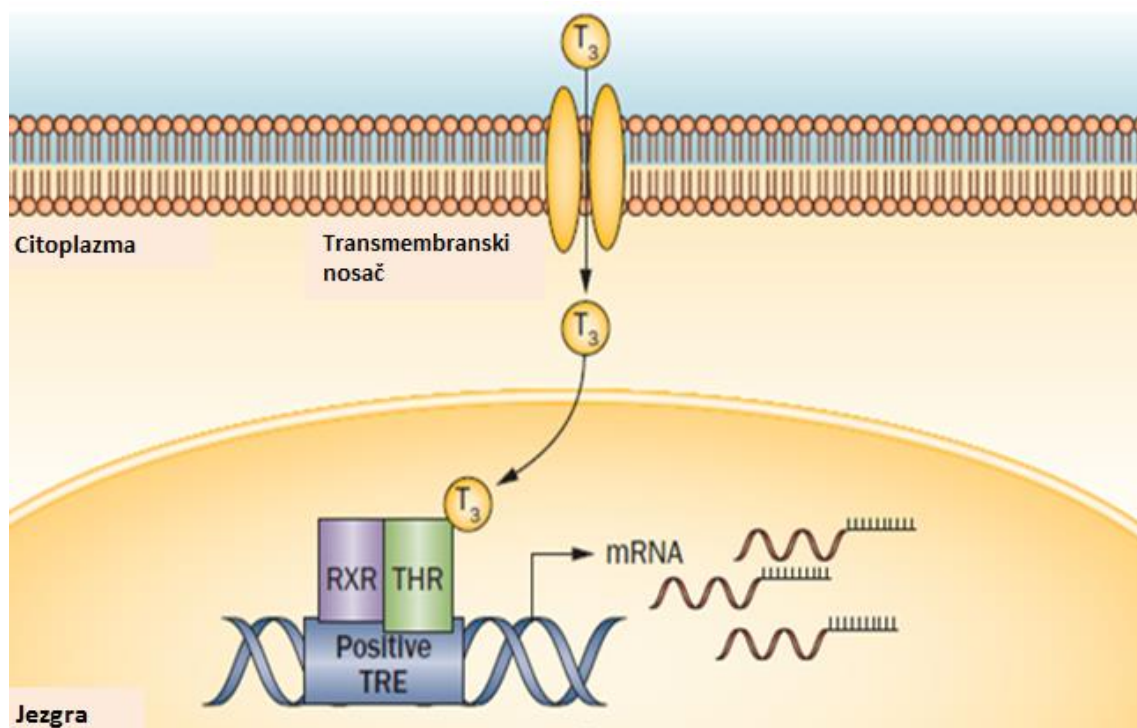
Kao što je već spomenuto, najvažnija funkcija štitnjače je lučenje dvaju hormona, T3 i T4. Od ukupne količine hormona štitnjače, T4 čini 97% ,a T3 samo 7%. Iako su funkcionalno oba hormona jednaka, T3 ima četiri puta jače djelovanje od T4, ali ga u krvi ima

manje i kraće se zadržava od tiroksina. Hormoni štitnjače se sintetiziraju u folikularnim stanicama štitnjače od tirozinskih ostataka unutar molekule tireoglobulina. Jodiranjem tirozinskih ostataka nastaju monojodtirozin (MIT) i diiodtirozin (DIT). Dvije molekule DIT-a spajaju se unutar tireoglobulina i tvore T4, dok spajanjem DIT-a i MIT-a nastaje T3. T4 i T3 molekule se zatim cijepaju i otpuštaju u cirkulaciju. Na periferiji dolazi do dejodinacije T4 u T3, koju najčeće katalizira enzim D1 dejodinaza. Sinteza hormona ovisi o raspoloživoj količini joda kao i o TSH [9]. (Slika 2)



Slika 2. Shematski prikaz regulacije lučenja hormona štitnjače [9]

Hormoni štitnjače se krvlju prenose vezani na proteinske nosače, no samo slobodni hormoni (engl. free) fT3 i fT4 su biološki aktivni. T3 ulazi u stanice preko transportera za hormone štitnjače. U jezgri se T3 veže na dimere koji sadrže THR (receptor za hormone štitnjače), te se taj kompleks veže na genomske TRE (element koji reagira na hormone štitnjače). Time reguliraju transkripciju gena (Slika 3) [10].



Slika 3. Prikaz djelovanja hormona štitnjače na staničnoj razini [10]

Hormoni štitnjače povećavaju staničnu metaboličku aktivnost, te mogu povećati bazalni metabolizam i do 100%. Kod djece pospješuju rast. Zbog toga je iznimno važno uočiti poremećaje funkcije štitnjače kod djece u razvoju kako bi se spriječili mogući problemi rasta. Utječu na metabolizam masti, ugljikohidrata te apetit čime izravno utječu i na tjelesnu masu. Djelovanjem hormona na srce i krvožilni sustav dolazi do povećanog protoka krvi u tkiva, povećane srčane frekvencije i snage srčane kontrakcije. Imaju podražajni učinak na središnji živčani sustav, odnosno živčane sinapse, što će imati utjecaja na san i mentalne funkcije. Optimalna količina hormona štitnjače potrebna je za normalne spolne funkcije [7].

1.3 Hipotireoza

Hipotireoza je najčešći endokrini poremećaj. Manifestira se zbog nedovoljne koncentracije hormona štitnjače u serumu do koje dolazi usred abnormalnosti u radu štitne žlijezde. Kod većine bolesnika se u početku bolesti pojavljuje guša, znatno povećana štitna žlijezda. Klinička slika je manje izražena nego kod hipertireoze. Opći simptomi posljedica su usporenog metabolizma i uključuju porast tjelesne težine, osjećaj hladnoće, opstipaciju, opću

slabost i umor, pospanost, usporene pokrete i smanjeno znojenje. Koža je suha i hladna na dodir. Kosa je lomljiva, pojačano ispada, a nokti su tanki i deformirani. Kod muškaraca se javlja smanjeni libido dok kod žena često uzrokuje menoragije (abnormalno, obilno menstrualno krvarenje) ali i amenoreje (izostanak menstruacije). Dugotrajna neliječena hipotireoza dovodi do razvoja miksedema (tjestasti otok kože, najčešće lica, koji nastaje zbog nagomilavanja mukopolisaharida u dermisu). Iako je još uvijek nedostatak joda u prehrani glavni uzrok hipotireoze, u zapadnim zemljama je vodeći uzrok ipak Hashimotov tireoiditis [11].

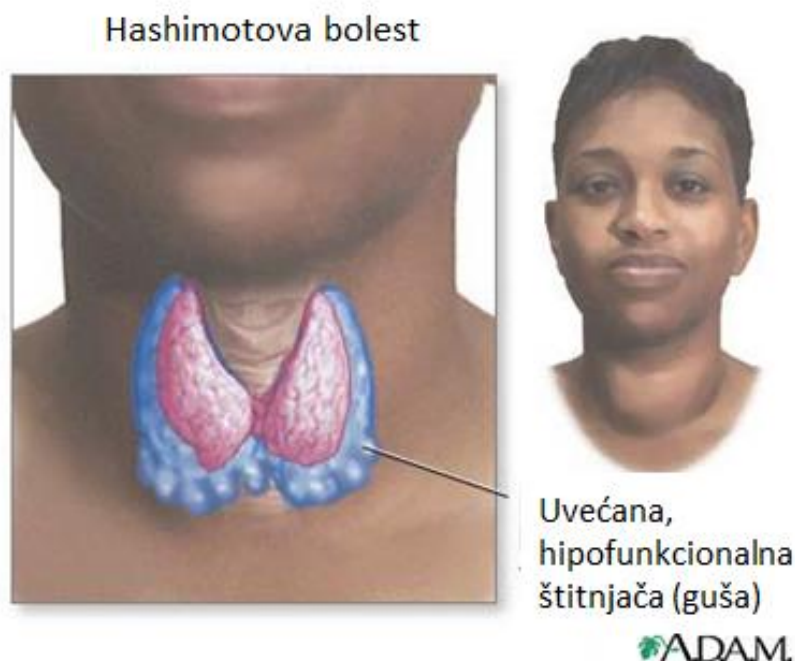
1.4 Hashimotov tireoiditis

Hashimotova bolest ili limfocitni tireoiditis je jedna od najčešćih autoimunih bolesti. Ime je dobila po liječniku Hakaru Hashimotu koji ju je prvi put opisao 1912. godine [12]. Kod žena se javlja pet do deset puta češće nego kod muškaraca, najčešće između 45. i 65. godine života, no može biti dijagnosticirana i kod djece [13]. Svrstava se među upalne bolesti štitnjače jer dolazi do stvaranja protutijela na stanice štitnjače. Reaktivne T i B stanice se infiltriraju u štitnjaču. B stanice luče protutijela dok citotoksične T stanice vode do postupnog uništavanja parenhima štitnjače i propadanja žlijezdanog tkiva koje na poslijetku fibrozira [14]. Time se smanjuje ili u potpunosti obustavlja sinteza hormona štitnjače, što vodi u stanje hipotireoze.

Hiperstimulacijom štitnjače nastaje guša (Slika 4) koja najčešće sporo raste. Sve osobe oboljele od HT-a ne moraju razviti simptome hipotireoze. Simptomi su često blagi, posebno u počecima bolesti.

Progresijom bolesti se najčešće javljaju slijedeći simptomi: [15]

- zamor
- tanka i lomljiva kosa
- menstrualni poremećaji
- osjećaj hladnoće
- opstipacija
- depresija
- povećanje tjelesne mase



Slika 4. Štitnjača kod osobe s HT-om [16]

1.5 Uzrok HT-a

Iako je točan uzrok ove autoimune bolesti štitnjače nepoznat, mnoga istraživanja su potvrdila da genetska predispozicija igra važnu ulogu u razvoju i kliničkoj manifestaciji bolesti. Dokazana je povezanost tri gena s HT-om: *HLA class II*, *CTLA4* i *PTPN22*. [17,18,19] . Sva tri gena su uključena u regulaciju imunološkog sustava, što se moglo i pretpostaviti s obzirom na autoimunološku karakteristiku HT-a. Zanimljivo, iako je HT jedna od najčešćih autoimunih bolesti, do sada nije analiziran na cjelogenomskoj razini.

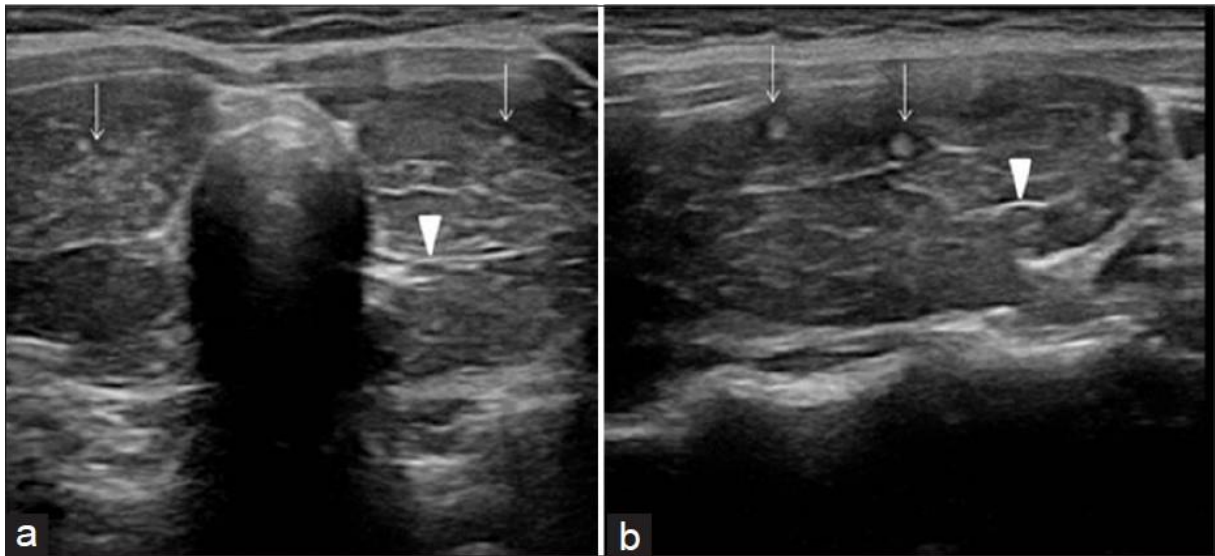
Okolišni čimbenici se već neko vrijeme smatraju okidačima za nastajanje autoimunih bolesti. Prekomjerni unos joda [20] i virusne infekcije [21] se najviše povezuju s nastankom HT-a. Pretpostavlja se da postoji još čitav niz okolišnih čimbenika kao što su utjecaj crijevne mikroflore [22] te različitih kemikalija kojima je zagađen okoliš (primjerice razni pesticidi ili nusprodukti industrijskih pogona) [23]. Unos različitih prehrambenih namirnica se također uzima u razmatranje kad govorimo o bitnim okolišnim čimbenicima koji mogu utjecati na nastajanje bolesti [24].

1.6 Dijagnoza HT-a

Određivanje TSH u serumu prvi je test za otkrivanje hipotireoze koji predlažu smjernice Hrvatskog društva za štitnjaču, kao i smjernice drugih nacionalnih društava. HT se dijagnosticira na temelju visokog titra protutijela na tireoidnu peroksidazu (TPOAt) i protutijela na tireoglobulin (TgAt). TPOAt su pozitivna kod više od 90% oboljelih od HT-a dok su TgAt pozitivna u 80% slučajeva [25]. Pozitivan nalaz TPOAt obično prethodi poremećaju funkcije štitnjače. Istraživanja su pokazala da 4,3% bolesnika s blago povišenim TSH i pozitivnim TPOAt godišnje pređe u stanje u hipotireoze, za razliku od 2,6% bolesnika s negativnim TPOAt [26]. Kao što je prikazano u brojnim epidemiološkim studijama, žene su do tri puta češće pozitivne na ova protutijela od muškaraca [25]. Dodatnim laboratorijskim nalazima se prate koncentracije hormona štitnjače T4 i TSH. U početnoj fazi bolesti TSH je blago povišen, T4 je u početku bolesti u granicama normale (ili tek blago snižen, prema donjoj granici normale). Progresijom bolesti razina hormona T4 pada dok razina hormona TSH raste.

1.7 Ultrazvuk štitnjače

Zbog karakterističnog izgleda, autoimune bolesti štitnjače se već na temelju ultrazvučnog nalaza mogu dijagnosticirati. Folikuli štitnjače kod autoimunih bolesti sadržavaju jako malo ili ništa koloida. Često je prisutna i povećana proliferacija folikularnog epitela te se zbog visoke celularnosti tkiva štitnjača očituje hipoehogenim prikazom, u odnosu na normalno tkivo. Kod HT-a je štitnjača dakle hipoehogena, s nepravilnim rubovima režnjeva te hiperehogenim tračcima (zbog fibroze). Kada histološke promjene nisu zahvatile cijelu štitnjaču registriraju se i ograničena mjesta hipoehogenosti (slika 5). Uz rub štitnjače se mogu vidjeti reaktivni, uvećani limfni čvorovi [27]. Ultrazvučnim pregledom štitnjače se određuje i veličina, odnosno volumen štitnjače.



Slika 5. Ultrazvuk štitnjače kod osobe s HT-om [28]

1.8 Terapija HT-a

S obzirom na smanjenu funkciju štitnjače kod bolesnika s HT-om, terapija uključuje doživotnu hormonsku nadomjesnu terapiju ukoliko dođe do razvoja hipotireoze. (HT kao konična upala se ne liječi ukoliko je funkcija štitnjače eutiroidna). Lijek izbora u većini slučajeva je levotiroksin (LT4), sintetski analog hormona T4, koji se primjenjuje oralno. Cilj terapije je postići eutiroidno stanje, klinički i biokemijski. Dnevne terapijske doze lijeka su individualne za svakog pacijenta, te se određuju na temelju laboratorijskih nalaza razine hormona TSH i fT4 u serumu, kao i na temelju kliničkog pregleda pacijenta. Terapiju treba započeti nižim dozama koje treba postupno povećavati svako 2-4 tjedna, tj. dok se ne postigne puna nadomjesna doza. Kod pacijenata koji ne mogu postići eutireozu (laboratorijsku ili kliničku) samo s levotiroksinom dodatno se primjenjuje i trijodtironin. Liotironin, analog trijodtironina se primjenjuje kod određenih pacijenata, no kod njega postoji veća mogućnost kardiotsičnosti kao i pojave tireotoksikoze.

Na hrvatskom tržištu trenutno postoje dva lijeka koja sadržavaju levotiroksinnatrij [29]:

1. Euthyox u osam terapijskih doza (25, 50, 75, 88, 100, 112, 125 i 150 μg levotiroksinnatrija).
2. Letrox u tri terapijske doze (50, 100 i 150 μg levotiroksinnatrija).



Slika 6. Euthyrox tablete u tri jačine

Ciljevi ovog rada bili su:

1. Detaljno okarakterizirati (opisati) ispitivanu skupinu ljudi oboljelih od HT-a s obzirom na prikupljene fenotipove: razine hormona i protutijela štitnjače, antropometrijske karakteristike, simptomi hipotireoze, klasifikacija guše, nalaz ultrazvuka štitnjače, postojanje komorbiditeta, pušačke navike.
2. Utvrditi postoje li razlike u medijanima fenotipova karakterističnih za HT (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt, volumen štitnjače i duljina trajanja bolesti) između ispitanika koji primaju terapiju levotiroksinom i onih koji ne primaju terapiju.
3. Utvrditi postojanje korelacija između fenotipova karakterističnih za HT (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt i volumen štitnjače) i ostalih značajnih fenotipova (dob ispitanika, indeks tjelesne mase, ukupna površina tijela, broj simptoma od kojih ispitanici boluju, krvni tlak i doza terapije).
4. Utvrditi postojanje međusobnih korelacija između fenotipova karakterističnih za HT (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt i volumen štitnjače).

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Ispitivana skupina

Za izradu ovog diplomskog rada su korišteni podatci koji su dobiveni u okviru HRZZ Uspostave potpore „Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tiroiditisa“, pod vodstvom mentorice, izv. prof. dr. sc. Vesne Boraska Perica. U okviru tog projekta je formirana baza podataka o ispitanicima oboljelim od HT-a, koji su prikupljeni u KBC-U Split na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu. Istraživanje je odobreno od strane etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Split i etičkog povjerenstva KBC-a Split. Svi ispitanici su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju. Od svakog ispitanika su prikupljeni uzorci krvi (20 ml) za DNA izolaciju i pohranu plazme i seruma. Također su prikupljeni i podatci o medicinskom statusu ispitanika, uključujući i informacije o operaciji štitnjače, kliničkoj klasifikaciji guše, ultrazvuku štitnjače, lijekovima koji koriste te razinama hormona i protutijela štitnjače (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt).

3.1.1 Opis vrijednosti razina hormona i protutijela

Razine hormona štitnjače (TSH, T3, T4, fT4) i razine protutijela (TgAt, TPOAt) u plazmi sudionika određene su radioimunoesej kvantitativnom metodom. Analize su provedene u potpuno automatiziranom instrumentu "Analizatoru kemoiluminiscencije" Biomedica Chemiluminescence Analyzer u Laboratoriju za biokemiju Splitske sveučilišne bolnice, pomoću *in vitro* testova za kvantitativno određivanje hormona štitnjače i protutijela.

3.1.2 Detaljan opis fenotipova

Uz osnovne podatke o bolesniku (spol i dob), prikupljeni su podatci o antropometrijskim (mjerljivim, brojivim) osobinama i kardiovaskularnim pokazateljima. BMI i BSA su naknadno izračunati.

Indeks tjelesne mase (Body mass index, BMI) je vrijednost izvedena iz mase (težine) i visine pojedinca. BMI je definiran kao tjelesna masa podijeljena s kvadratom visine i izražen je u jedinici kg / m². BMI je pokušaj kvantificiranja količine tkiva kod pojedinca (mišića,

masnoća i kosti), a zatim kategorizacija tog pojedinca kao pothranjenu, normalnu ili pretilu osobu [30].

BMI smo računali iz podataka o visini (h) i težini (m) ispitanika pomoću formule:

$$\text{BMI} = m(\text{kg}) / h^2(\text{m})$$

Ukupna površina tijela (Body surface area, BSA) je izmjerena ili izračunata površina ljudskog tijela. Za mnoge kliničke svrhe BSA je bolji pokazatelj metaboličke mase od tjelesne težine jer je manje pogođena abnormalnom masnom tjelesnom masom.

BSA smo računali prema formuli: $\text{BSA} = m(\text{kg})^{0.425} \times h(\text{cm})^{0.725} \times 0.007184$

Dio ankete za ispitanike se odnosio na pušačke navike, te su prikupljene informacije o broju aktivnih pušača i bivših pušača, te informacije o broju cigareta koje dnevno puše (za obje kategorije pušača).

Korišteni su podatci od ukupno 405 ispitanika. U Tablici 1. se nalaze osnovne fenotipske karakteristike ispitanika.

Tablica 1. Osnovne fenotipske karakteristike ispitanika

Tablica 1.	
Varijabla	Podatci
n	405
Spol, n (%)	
Žene	378 (93,9%)
Muškarci	27 (6,66%)
Medijan dob, godine (raspon)	37,7 (15-78)
Medijan visine, cm (raspon)	170 (152-203)
Median mase, kg (raspon)	69,5 (44-120)
Medijan krvnog sistoličkog tlaka, mmHg (raspon)	115 (80-190)
Medijan krvnog dijastoličkog tlaka, mmHg (raspon)	70 (50-140)
Medijan BMI (raspon)	23,4 (16,9-41,5)
Medijan BSA (raspon)	1,79 (1,39-2,45)
Medijan opsega struka, mm (raspon)	835 (570-1700)
Medijan opsega bokova, mm (raspon)	1030 (570-1600)
Medijan opsega glave, mm (raspon)	550 (250-655)
Medijan opsega vrata, mm (raspon)	340 (250-655)
Medijan opsega nadlaktice, mm (raspon)	285 (200-420)
Aktivni pušači, n (medijan broja cigareta dnevno)	114 (10)
Bivši pušači, n (medijan broja cigareta dnevno)	54 (15)

3.1.3 Opis simptoma i komorbiditeta ispitanika

Kroz upitnik koji su liječnici popunjavali o pacijentima prikupljeni su podatci o 16 tipova simptoma karakterističnih za HT, odnosno hipotireozu. Važno je naglasiti da su to simptomi koje je ispitanik osjećao prije uvođenja terapije. Na pitanja o simptomima se odgovaralo sa da i ne. Pitanja su se odnosila na slijedeće simptome: slabost, suha koža, usporen govor, otečenost očnih kapaka, osjetljivost na hladnoću, hladna koža, edem lica, lomljivost kose, blijeda koža, poremećaj pamćenja, opstipacija, porast tjelesne težine, gubitak dlaka, dispneja (otežano disanje), periferni edemi i promuklost.

U anketi koju su pacijenti sami popunjavali prikupljene su i informacije o osobnoj anamnezi. Navedeno je 11 komorbiditeta koji se javljaju uz HT. Ispitanici su odgovarali sa da i ne. Pitanja su se odnosila na slijedeće komorbiditete: povišen krvni tlak, koronarna bolest srca, moždani udar, zloćudni tumor, šećerna bolest, giht, glaukom, upalna bolest zglobova,

bubrežna bolest, ulkusna bolest ili GERB, astma ili alergije. Prikupljene su i opisne informacije o ostalim bolestima koje nisu navedene u upitniku.

3.1.4 Klinička klasifikacija guše i nalaz ultrazvuka štitnjače

U upitniku koji su popunjavali liječnici, dio pitanja se odnosio na gušu. Prikupljeni su podatci o kliničkoj klasifikaciji guše.

Klinička klasifikacija guše (podjela prema WHO), podijeljena u stupnjeve.

- Stupanj 0: Nema guše.
- Stupanj 1a: Štitnjača palpabilna, ali se ne vidi ni pri istezanju vrata.
- Stupanj 1b: Štitnjača palpabilna i vidi se pri istezanju vrata.
- Stupanj 2: Guša vidljiva pri normalnom položaju vrata, iz blizine.
- Stupanj 3: Velika guša vidljiva iz veće udaljenosti.

Dodatno, napravljen je i ultrazvuk štitnjače pomoću Medison Accuvix V10 (SamsungMedison Co., Ltd., Seoul 135-280, Koreja) visokoučinkovite linearne sonde (8-12Hz). Iz nalaza ultrazvuka štitnjače dobiveni su podatci o zaključku nalaza ultrazvuka štitnjače, koji je podijeljen u 4 stupnja od 0-3.

- 0-normalan nalaz
- 1-difuzna bolest štitnjače
- 2-difuzna bolest uz nodularne promjene
- 3-nodularne promjene bez difuzne bolesti.

3.2 Statističke analize

Normalnost distribucije svih kvantitativnih fenotipova testirana je korištenjem Kolmogorov-Smirnovljevog testa. P vrijednost Kolmogorov-Smirnovljevog testa, za sve opisane kvantitativne fenotipove bila je manja od 0.05, što znači da promatrani fenotipovi nisu bili normalno distribuirani. Stoga su svi kvantitativni fenotipovi opisani pomoću

medijana i raspona, dok je za kategorijske fenotipove prikazan broj ispitanika i udio (tj. postotak) ispitanika koji pripadaju određenoj kategoriji.

Razlike u medijanima razina hormona i protutijela štitnjače, te volumena štitnjače između ispitanika koji su primali terapiju i onih koji nisu bili na terapiji, testirane su korištenjem neparametrijskog, Mann-Whitney testa.

Korelacije odabranih varijabli, fenotipova karakterističnih za HT (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt i volumen štitnjače) i ostalih značajnih fenotipova (dob ispitanika, BMI, BSA, broj simptoma od kojih ispitanici boluju, krvni tlak i doza terapije), kao i međusobne korelacije između relevantnih fenotipova karakterističnih za HT (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt i volumen štitnjače) testirane su u skupini svih ispitanika, te posebno u skupini ispitanika koji primaju terapiju levotiroksinom i skupini ispitanika koji nisu primali terapiju. S obzirom da nijedna promatrana varijabla nije imala normalnu distribuciju, za testiranje povezanosti promatranih varijabli korišten je Spearmanov test korelacije.

4. REZULTATI

4.1 Učestalost simptoma hipotireoze i komorbiditeta među ispitanicima

Kod ukupno 289 ispitanika (71,3%) se javio barem jedan simptom hipotireoze, a slabost se javlja kao najčešći, kod 64,7% ispitanika. Slijede je suhoća i hrapavost kože kod 41,8% ispitanika te osjetljivost na hladnoću (39,41%) i porast tjelesne težine (38,7%). U Tablici 2. se nalaze svi simptomi hipotireoze, navedeni u upitniku, poredani po učestalosti.

Tablica 2. Simptomi hipotireoze

Tablica 2.	
Simptomi	n (%)
Slabost	187 (64.7%)
Suha, hrapava koža	121 (41.8%)
Osjetljivost na hladnoću	114 (39.4%)
Porast tjelesne težine	112 (38.7%)
Lomljivost kose	100 (34.6%)
Hladna koža	99 (34.3%)
Dispneja	92 (31.8%)
Blijeda koža	92 (31.8%)
Poremećaj pamćenja	88 (30.4%)
Opstipacija	80 (27.6%)
Otečenost očnog kapka	66 (22.8%)
Promuklost	66 (22.8%)
Periferni edemi	46 (15.9%)
Gubitak dlaka	42 (14.5%)
Edem lica	35 (12.1%)
Usporen govor	33 (11.4%)

Podatke o ostalim komorbiditetima smo skupili za 400 ispitanika. Kao najčešća dodatna bolest javlja se astma ili alergija, koju je prijavilo 15,5% ispitanika. U Tablici 3. se nalaze svi komorbiditeti navedeni u upitniku, poredani po učestalosti. Od ostalih komorbiditeta koji se ne nalaze u upitniku, 92 ispitanika su navela neku drugu bolest. Anemija se javlja kao najčešća (14), zatim migrena (6), bolesti kralježnice i zgobova (5), vitiligo (4), skolioza (4), gastritis (4), seboreični dermatitis (2) i rinitis (2).

Tablica 3. Komorbiditeti

Tablica 3.	
Komorbiditeti	n (%)
Astma ili alergija	62 (15,5%)
Povišen krvni tlak	49 (12,3%)
Ulkusna bolest ili GERB	26 (6,5%)
Upala zglobova	18 (4,5%)
Bubrežna bolest	13 (3,3%)
Koronarna bolest srca	8 (2,0%)
Šećerna bolest	6 (1,5%)
Glaukom	3 (0,8%)
Moždani udar	2 (0,3%)
Zloćudni tumor	2 (0,5%)
Giht	1 (0,2%)

4.2 Rezultati nalaza guše

U Tablici 4. se nalazi klinički nalaz guše, te su podatci prikupljeni za 310 pacijenata. Iz tablice vidimo da se najveći broj pacijenata (57,7%) nalazi u kategoriji 1a koja predstavlja pacijente s palpabilnom štitnjačom koja se ne vidi pri istezanju vrata.

Tablica 4. Klinička klasifikacija guše

Tablica 4.	
Stupanj	n (%)
0	11 (3,5%)
1a	179 (57,7%)
1b	112 (36,1%)
2	7 (2,3%)
3	1 (0,3%)

U Tablici 5. se nalazi zaključak nalaza ultrazvuka štitnjače, te su podatci prikupljeni za 366 pacijenata. Većina ispitanika (87,8%) ima difuznu bolest štitnjače (bolest zahvaća cijelu žlijezdu).

Tablica 5. Zaključak nalaza ultrazvuka štitnjače

Tablica 5.	
Stupanj	n (%)
0	3 (0,8%)
1	314 (85,8%)
1,2	4 (1,1%)
2	44 (12,0%)
3	1 (0,3%)

4.3 Usporedba laboratorijskih nalaza hormona štitnjače i protutijela

U Tablici 6. se nalaze usporedbe laboratorijskih nalaza za TSH, T3, T4, fT4, TPOAt i TgAt, kod svih pacijenata, onih koji su na terapiji i onih koji ne primaju terapiju. U tablici su prikazane referentne vrijednosti za opću populaciju radi lakše usporedbe. Također je uspoređen volumen štitnjače među tim kategorijama ispitanika kako bi se utvrdilo ima li terapija utjecaja na volumen štitnjače. Statistička značajnost (P-vrijednost) se odnosi na usporedbu prikazanih varijabli između skupine ispitanika koji su na terapiji i onih koji ne primaju terapiju.

Tablica 6. Usporedba varijabli povezanih s HT-om

Tablica 6.					
	Referentne vrijednosti	Svi ispitanici (405)	Ispitanici na terapiji (145)	Ispitanici bez terapije (233)	P
Variable	raspon	median	median	median	
TSH, mUI/L	0,3-3,6	3.26	2.22	3.59	<0.001
T3, nmol/L	1,3-3,6	1.7	1.7	1.7	0.6283
T4, nmol/L	57,4-161	106	112.5	101	<0.001
fT4, nmol/L	10,1-22,3	12.1	12.7	11.9	<0.001
TgAt, IU/mL	5-100	135.5	150.5	124	0.5746
TPOAt, IU/mL	1-16	201.5	168.35	214	0.8229
Volumen štitnjače	/	10.83	8.56	10.61	<0.001
Duljina bolesti (dani)	/	219	1864	3	<0.001

Iz tablice se vidi sljedeće:

- TSH vrijednosti ispitanika koji ne primaju terapiju su na gornjoj granici referentnih vrijednosti, što odgovara početnoj, neliječenoj bolesti, dok oni na terapiji upadaju u raspon referentnih vrijednosti. Razlike u TSH vrijednostima između dvije spomenute grupe je statistički značajna.
- Kod ispitanika koji primaju terapiju su vrijednosti T4 i fT4 statistički značajno veće nego kod onih koji ne primaju terapiju, što je i logično s obzirom da se terapija sastoji od uzimanja sintetičkog T4. Međutim, vrijednosti su u obje skupine ispitanika u okviru referentnih vrijednosti.
- Kod svih ispitanika je nađen visok titar protutijela na štitnjaču, što je i očekivano kod HT-a, no uočavamo da je ta vrijednost za TgAt nešto viša, dok je vrijednost TPOAt niža kod ispitanika koji primaju terapiju, međutim razlike nisu statistički značajne.
- Kod ispitanika koji primaju terapiju uočavamo statistički značajno manji volumen štitnjače u odnosu na ispitanike koji ne primaju terapiju.

4.4 Rezultati korelacija među ispitivanim varijablama

U Tablici 7. se nalaze koeficijenti korelacije (r), s pripadajućim p-vrijednostima, laboratorijskih vrijednosti razina hormona i protutijela štitnjače te volumena štitnjače s fenotipskim varijablama: dob, BMI, BSA, broj simptoma (BS), dijastolički tlak (DT), sistolički tlak (DT) i doza Euthyroxa. Promatrali smo korelacije među svim ispitanicima, ispitanicima koji primaju terapiju (T) i onima koji ne primaju terapiju Euthyroxom (BT). Sve p-vrijednosti manje od 0.05 su smatrane statistički značajnim, te su te korelacije označene crvenom bojom.

Tablica 7. Korelacije između fenotipova karakterističnih za HT i odabranih fenotipova

Tablica 7.		Dob			BMI			BSA			BS			ST			DT			Doza Euth.		
		SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT*
TSH	r	0.034	-0.147	0.169	0.059	-0.053	0.140	0.087	-0.026	0.175	0.054	0.013	0.163	0.145	-0.035	0.231	0.164	0.051	0.216	-0.241	-0.212	/
	p-vrijednost	0.501	0.080	0.011	0.248	0.539	0.036	0.090	0.766	0.009	0.360	0.892	0.033	0.015	0.732	0.003	0.006	0.620	0.005	<0.001	0.012	/
T3	r	0.039	0.104	0.008	-0.013	0.046	-0.063	-0.001	0.094	-0.045	-0.085	0.059	-0.148	0.023	0.065	0.002	0.069	0.034	0.100	0.028	0.005	/
	p-vrijednost	0.444	0.218	0.902	0.794	0.597	0.352	0.987	0.276	0.507	0.152	0.553	0.053	0.703	0.524	0.977	0.251	0.738	0.199	0.584	0.954	/
T4	r	0.062	0.184	-0.037	0.001	0.091	-0.067	-0.014	-0.010	-0.017	-0.040	-0.013	-0.083	-0.002	0.118	-0.052	-0.045	-0.021	-0.023	0.245	0.216	/
	p-vrijednost	0.223	0.028	0.576	0.982	0.293	0.321	0.777	0.906	0.805	0.504	0.900	0.282	0.979	0.248	0.507	0.450	0.840	0.769	<0.001	0.010	/
fT4	r	-0.097	0.059	-0.226	-0.133	-0.107	-0.153	-0.110	-0.149	-0.100	-0.044	-0.017	-0.109	-0.112	-0.094	-0.134	-0.124	-0.117	-0.076	0.291	0.290	/
	p-vrijednost	0.055	0.485	0.001	0.009	0.212	0.023	0.031	0.082	0.135	0.458	0.867	0.156	0.061	0.360	0.084	0.038	0.253	0.328	<0.001	0.001	/
TgAt	r	0.02	0.042	-0.012	0.026	-0.044	0.061	0.045	0.007	0.059	0.194	-0.017	0.282	-0.052	-0.096	-0.077	0.029	0.027	0.013	0.058	0.204	/
	p-vrijednost	0.696	0.617	0.857	0.609	0.606	0.363	0.376	0.937	0.382	0.001	0.865	<0.001	0.383	0.345	0.321	0.634	0.788	0.870	0.260	0.016	/
TPOAt	r	0.055	-0.038	0.092	0.049	0.044	0.075	0.034	0.111	0.009	0.170	0.087	0.194	0.102	0.115	0.091	0.139	0.167	0.117	0.037	0.182	/
	p-vrijednost	0.275	0.655	0.168	0.338	0.611	0.264	0.512	0.196	0.888	0.004	0.380	0.011	0.089	0.261	0.239	0.020	0.099	0.133	0.477	0.031	/
VŠ	r	-0.07	-0.142	-0.019	0.128	0.091	0.166	0.156	0.228	0.1343	0.167	0.229	0.174	0.007	0.007	0.023	0.083	0.047	0.078	-0.163	-0.042	/
	p-vrijednost	0.196	0.108	0.785	0.015	0.309	0.016	0.003	0.010	0.051	0.006	0.026	0.027	0.908	0.945	0.769	0.181	0.658	0.328	0.002	0.639	/

*Kod ispitnika koji nisu na terapiji ne može se izračunati korelacija s dozom Euthyroxa, jer ona iznosi 0.

Pronađene su slijedeće **statistički značajne korelacije**.

- **Korelacije s TSH:** Pronađene su blage pozitivne korelacije između TSH i svih odabranih fenotipova, osim doze Euthyroxa, u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Najznačajnija i nešto jača korelacija je pronađena sa sistoličkim i dijastoličkim tlakom, ne samo u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju već i u skupini sa svim ispitanicima. Očekivano, negativna korelacija je pronađena s dozom Euthyroxa u skupini ispitanika koji primaju terapiju.
- **Korelacije s T3:** Nije pronađena ni jedna korelacija.
- **Korelacije s T4:** Pronađena je pozitivna korelacija između T4 i dobi kod ispitanika na terapiji. Očekivano je pokazana jako značajna pozitivna korelacija s dozom Euthyroxa u skupini sa svim ispitanicima kao i u skupini ispitanika koji primaju terapiju.
- **Korelacije s fT4:** Pronađena je negativna korelacija s dobi u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Također negativne korelacije s BMI su pronađene u skupini svih ispitanika kao i u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Utvrdili smo da postoji i negativna korelacija s BSA u skupini sa svim ispitanicima. Negativna korelacija s dijastoličkim tlakom pronađena u skupini svih ispitanika. Pozitivna korelacija s dozom Euthyroxa pronađena je među skupinama sa svim ispitanicima i skupini ispitanika na terapiji.
- **Korelacije s TgAt:** Pronađene su jako značajne pozitivne korelacije s brojem simptoma u skupini sa svim ispitanicima kao i u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Pozitivna korelacija je pronađena i s dozom Euthyroxa u skupini ljudi na terapiji.
- **Korelacije s TPOAt:** Slično kao i za TgAt, pronađene su pozitivne korelacije s brojem simptoma u skupini sa svim ispitanicima kao i u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju te s dozom Euthyroxa u skupini ljudi na terapiji. Također smo pronašli i pozitivnu korelaciju s dijastoličkim tlakom kod skupine sa svim ispitanicima.
- **Korelacije s volumenom štitnjače:** Pozitivne korelacije pronađene su s BMI u skupini svih ispitanika kao i u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Također pozitivne korelacije pronađene su s BSA u skupini sa svim ispitanicima kao i u skupini ispitanika koji primaju terapiju. Kod sve tri skupine ispitanika utvrđena je pozitivna korelacija s brojem simptoma.

Negativna korelacija s dozom Euthyroxu uočena je u skupini sa svim ispitanicima.

U Tablici 8. se nalaze međusobne korelacije laboratorijskih vrijednosti hormona štitnjače, protutijela i volumena štitnjače. Ove korelacije su također promatrane među tri skupine ispitanika. Sve statistički značajne korelacije su kao i u prethodnoj tablici označene crvenom bojom.

Tablica 8. Međusobne korelacije između fenotipova karakterističnih za HT

		TSH			T3			T4			ft4			TgAt			TPOAt			VŠ		
		SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT	SVI	T	BT
TSH	r	x	x	x	-0.275	-0.248	-0.263	-0.375	-0.299	-0.357	-0.594	-0.435	-0.652	0.117	0.019	0.162	0.270	0.202	0.337	0.175	0.299	0.086
	p-vrijednost	x	x	x	<0.001	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.018	0.823	0.013	<0.001	0.015	<0.001	0.001	0.001	0.204
T3	r				x	x	x	0.407	0.335	0.463	0.302	0.250	0.349	-0.199	-0.130	-0.199	-0.138	0.002	-0.204	-0.100	-0.049	-0.154
	p-vrijednost				x	x	x	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003	<0.001	0.000	0.122	0.002	0.006	0.977	0.002	0.055	0.579	0.022
T4	r							x	x	x	0.427	0.277	0.475	-0.178	-0.007	-0.282	-0.210	0.024	-0.339	-0.146	-0.089	-0.132
	p-vrijednost							x	x	x	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.933	<0.001	<0.001	0.778	<0.001	0.005	0.314	0.050
ft4	r										x	x	x	-0.110	0.027	-0.195	-0.234	-0.124	-0.326	-0.148	-0.130	-0.108
	p-vrijednost										x	x	x	0.027	0.749	0.003	<0.001	0.139	<0.001	0.004	0.141	0.110
TgAt	r													x	x	x	0.437	0.305	0.518	0.309	0.181	0.410
	p-vrijednost													x	x	x	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.039	<0.001
TPOAt	r																x	x	x	0.403	0.350	0.449
	p-vrijednost																x	x	x	<0.001	<0.001	<0.001
VŠ	r																			x	x	x
	p-vrijednost																			x	x	x

Kao očekivane korelacije, pronađene kod sve tri promatrane skupine, izdvajamo pozitivne korelacije između TSH i hormona štitnjače (T3, T4 i fT4) te međusobne korelacije među hormonima štitnjače. Korelacije su očekivane s obzirom na mehanizam povratne sprege kojim TSH utječe na lučenje hormona.

Ostale statistički značajne korelacije:

- **Korelacije s TSH:** Pronađena je pozitivna korelacija s TgAt u skupini svih ispitanika. Također pozitivne korelacije s TPOAt pronađene su kod sve tri promatrane skupine. Pozitivna korelacija s volumenom štitnjače pronađena je u skupini svih ispitanika te u skupini ispitanika koji primaju terapiju.
- **Korelacije s T3:** Negativne korelacije s TgAt su pronađene u skupini svih ispitanika kao i u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Također negativna korelacija s TPOAt pronađena je u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Pronađena je i negativna korelacija s volumenom štitnjače u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju.
- **Korelacije s T4:** Negativne korelacije, uočene u skupini svih ispitanika te u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju, su korelacije s TgAt, TPOAt te volumenom štitnjače.
- **Korelacije s fT4:** Slično kao i kod T4, uočene su negativne korelacije s TgAt i TPOAt u skupini svih ispitanika kao i u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. Negativna korelacija s volumenom štitnjače pronađena je u skupini svih ispitanika.
- **Korelacije s TgAt:** Kod sve tri promatrane skupine uočene su pozitivne korelacije s TPOAt te volumenom štitnjače.
- **Korelacije s TPOAt:** Isto kao i kod TgAt, pozitivna korelacija s volumenom štitnjače pronađena je kod sve tri promatrane skupine ispitanika.

4.5 Korelacije volumena štitnjače i pušenja

U Tablici 9. se nalaze korelacije između volumena štitnjače (VŠ), dnevnog broja cigareta kod aktivnih pušača (BC) i godina koliko dugo puše aktivni pušači (GP). Uspoređene su korelacije među svim ispitanicima, ispitanicima na terapiji i ispitanicima koji ne primaju terapiju. Statistički značajne korelacije, s p-vrijednošću manjom od 0.05, su označene crvenom bojom

Tablica 9. Korelacije volumena štitnjače i podataka o pušenju

Tablica 9.							
		Svi ispitanici		Ispitanici na terapiji		Ispitanici bez terapije	
		BC	GP	BC	GP	BC	GP
VŠ	r	-0,153	-0,087	-0,426	-0,261	0,001	0,110
	p-vrijednost	0,119	0,374	0,034	0,198	0,994	0,348

Iz tablice se vidi da postoji srednje jaka negativna korelacija između volumena štitnjače i broja cigareta koje dnevno popuše aktivni pušači. Zanimljivo, korelacija se odnosi samo na ispitanike na terapiji. U skupini ispitanika koji primaju terapiju nalazi se 54 pušača (30 aktivnih i 24 bivša pušača), a u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju je broj pušača nešto veći te iznosi 102 (76 aktivnih i 26 bivših pušača).

Što se tiče samog volumena štitnjače kod pušača (u toj kategoriji su i aktivni i bivši pušači), medijan iznosi 10,19 dok kod nepušača medijan volumena štitnjače iznosi 9,81. Uočavamo manji volumen štitnjače kod nepušača.

5.1 Osnovne fenotipske karakteristike ispitanika

Hashimotov tiroiditis najčešći je autoimuni poremećaj štitnjače. U pravilu češće zahvaća žensku populaciju što se ovim istraživanjem i potvrđuje. Naime, u Tablici 1 vidimo da je 93% ispitanika žene, čime je incidencija među ženama čak 15 puta veća u odnosu na muškarace. Medijan dobi ispitanika iznosi 37.7 godina. Iako je potvrđeno u prethodnim istraživanjima da osobe oboljele od HT-a imaju blago povećan BMI [31], u ovom istraživanju je median BMI-a iznosio 23,4 što upada u granice normalnog raspona BMI-a. (normalan raspon BMI= 18.5–24.9) [32]

HT se može manifestirati na razne načine, od subkliničkog uz prisutnost protutijela (TgAt i TPOAt) u serumu, do teške disfunkcije štitnjače. Na žalost, ne postoje simptomi koji su jedinstveni za HT. Budući da bolest obično napreduje vrlo sporo tijekom godina, osobe oboljele od HT-a u ranim zaćecima bolesti ne moraju imati nikakve simptome, čak i kad je dokazana prisutnos TgAt i TPOAt u serumu. Tijekom vremena, s postupnim otkazivanjem štitnjače, većina pacijenata na kraju razvije simptome hipotireoze koji se korigiraju hormonskim nadomjesnim liječenjem (uglavnom terapija Euthyroxom). U ovom istraživanju 145 (36%) ispitanika prima terapiju Euthyroxom, a 233 (58%) ispitanika ne prima terapiju. U skupini ispitanika koji ne primaju terapiju, za njih 116 (28,5%) možemo reći da se nalaze u stanju hipotireoze s obzirom da su im vrijednosti TSH iznad referentnih vrijednosti. Važno je napomenuti da se u ovoj skupini uglavnom radi o novodijagnosticiranim HT bolesnicima.

5.2 Simptomi

U Tablici 2 vidimo da se kod ukupno 289 ispitanika (71% ispitanika) javio barem jedan simptom hipotireoze, iz čega možemo vidjeti da 29% ispitanika ima subklinički, odnosno asimptomatski oblik HT-a. Analizom simptoma došli smo do zaključka kako se najčešće javlja slabost, koju je prijavilo 187 (64,7%) ispitanika, zatim suha koža, simptom prijavljen kod 121 (41,8%) ispitanika. U istraživanju iz 2011. godine [33], koje je analiziralo simptome kod žena oboljelih od HT-a, pronađene su određene sličnosti s dobivenim rezultatima iz našeg istraživanja. Kao najčešći simptomi koji se javljaju kod žena oboljelih od HT-a, navode se slabost i suha koža, što se pokazalo jednako kao i u našem istraživanju. Što se tiče ostalih simptoma, među češćima su također navedeni lomljivost kose, te osjetljivost na hladnoću, što je slučaj i u našem istraživanju gdje 114 (39,4%) ispitanika prijavilo osjetljivost na hladnoću a njih 100 (34,6%) lomljivost kose. Porast tjelesne težine, kao jedan od češćih simptoma povezanih s hipotireozom, je prijavilo 112 (38,7%) ispitanika. U literaturi nema

podataka o učestalosti porasta težine, kao simptoma među oboljelima od HT-a, pa je rezultat neusporediv.

5.3 Komorbiditeti

Najčešća bolest koja je prisutna uz HT kod naših ispitanika je astma ili neka vrsta alergije (upitnikom nije specificirano koja vrsta alergije), te je prisutna kod 62 (15,5%) ispitanika (Tablica 3). S obzirom na to da urtikarija može imati alergijsku pozadinu, u radu o povezanosti urtikarije i HT-a [34], meta-analizom se došlo do podatka kako je u populaciji pacijenata s urtikarijom prevalencija onih pozitivnih na protutijela štitnjače veća nego u populacije koja nema urtikariju. To upućuje na mogućnost povezanosti urtikarije s povećanim rizikom za razvoj autoimunih bolesti štitnjače. U prethodnim istraživanjima [35] je uočena i prisutnost skrivenog autoimunog tiroiditisa (vidljivim kroz povećana TPOAt protutijela) kod ljudi s astmom što je u skladu s našim rezultatima.

U jednom istraživanju [31] je utvrđeno kako su različiti parametri (hiperglikemija, hiperlipidemija, hipertenzija i hiperkolesterolemija) metaboličkog sindroma (MS-a) često prisutni kod bolesnika s HT-om. U našem istraživanju se kod 49 (12,3%) ispitanika uz HT javlja i hipertenzija. Do hipertenzije dolazi jer hipotireoidizam smanjuje vazorelaksaciju posredovanu endotelom i vaskularnu popustljivost, čime se povećava diastolički krvni tlak. Smanjeni periferni vaskularni otpor u hipotireoidizmu povećava volumen krvi i venski priljev [36]. Sukladno tome, kod osoba oboljelih od HT-a postoji veći rizik za razvoj koronarnih bolesti srca u odnosu na zdravu populaciju [37] te se u našem ispitivanju koronarna bolest srca javlja kod 8 (2%) ispitanika. Kod 26 (6,5%) ispitanika prisutna je i ulkusna bolest. Anemiju je prijavilo 14 (3,5%) ispitanika. Uz podatak iz prethodnog istraživanja, gdje je prevalencija anemije među ženama oboljelim od HT-a bila 4.4% [38], rezultat od 3.5% dobiven u našem istraživanju je dosta usporediv.

Na temelju najnovijih istraživanja razmatra se mišljenje kako autoimune bolesti koegzistiraju u istoj osobi ili pak u obitelji, no istraživanja su rađena na malim skupinama ispitanika [39]. U istraživanju u kojem je sudjelovalo 495 osoba oboljelih od HT-a, došlo se do zaključka kako se kod njih 14,4% javlja i neka druga autoimuna bolest [38]. S obzirom da se u našem istraživanju nisu pratile isključivo autoimune bolesti kod ispitanika, rezultati se ne mogu usporediti. Ono što se također pokazalo je kako su neke autoimune bolesti, kao što je dijabetes tipa 1 [40], vitiligo [41] te multipla skleroza [42], često u koegzistenciji s autoimunim bolestima štitnjače. U našem istraživanju je kod 6 (1,5%) ispitanika uz HT

prisutan i dijabetes, dok su vitiligo prijavila samo 4 ispitanika, što je manje od 1%. Kod 18 (4,5%) ispitanika se javlja i upalna bolest zglobova, za koju nije detaljno specificirano u upitniku kojeg su popunjavali pacijenti da se radi isključivo o autoimunoj bolesti.

5.4 Rezultati nalaza guše i ultrazvuka štitnjače

Guša (povećanje štitnjače) nastaje kao posljedica HT-a. Iz Tablice 4. uočavamo da samo 3.5% ispitanika nema gušu, dok 57.7% ispitanika spada u kategoriju 1a kliničke klasifikacije guše, koja predstavlja pacijente s palpabilnom štitnjačom koja se ne vidi pri istezanju vrata, te zapravo označava početni stadij nastanka guše. Velika guša je nastala samo kod jednog ispitanika. Što se tiče zaključka nalaza ultrazvuka koji se nalazi u Tablici 5, među ispitanicima prevladava difuzna bolest štitnjače (85,8%). 12% ispitanika uz difuznu bolest ima i nodularne promjene. Zanimljiva je činjenica da manje od 1% ispitanika (0,8%) ima normalan nalaz ultrazvuka štitnjače. U jednom većem istraživanju, koje je obuhvatilo 769 ispitanika s HT-om, došli su do zaključka kako 13% ispitanika ima normalan nalaz, oko 24% ispitanika ima difuznu bolest, a većina ispitanika ima nodularne promjene na štitnjači [43]. Kao što možemo vidjeti rezultati našeg istraživanja se dosta razlikuju te nisu usporedivi.

5.5 Laboratorijski nalazi hormona štitnjače i protutijela

Iz dobivenih rezultata (Tablica 6) uočavamo statistički značajne razlike u razinama TSH, T4 i fT4 među ispitanicima koji ne primaju terapiju te ispitanicima koji primaju terapiju Euthyroxom. Rezultati su u skladu s očekivanjem, s obzirom da se radi o hormonskoj nadomjesnoj terapiji, te ispitanici koji primaju terapiju imaju nešto više vrijednosti T4 i fT4, u odnosu na ispitanike koji ne primaju terapiju. Upravo zbog terapije dolazi i do nešto nižih vrijednosti TSH kod ispitanika koji primaju terapiju, s obzirom na mehanizam povratne sprege kojim se regulira lučenje TSH, a time i hormona štitnjače. Što se tiče razina protutijela, ispitanici na terapiji imaju nešto nižu serumsku koncentraciju TPOAt, no razlika nije statistički značajna. U prethodnim istraživanjima je dokazano kako kod većine HT pacijenata koji primaju terapiju levotiroksinom ipak dolazi do smanjena serumske koncentracije TPOAt, u odnosu na osobe koje ne primaju terapiju [44]. Kod ispitanika na terapiji uočena je značajna redukcija volumena štitnjače u odnosu na ispitanike koji ne primaju terapiju. Ovaj rezultat je u skladu s dosadašnjim saznanjima, koja su potvrdila kako terapija levotiroksinom smanjuje volumen štitnjače. LT4 se u tu svrhu koristi i kod eutiroidnih pacijenata s ciljem smanjenja volumena štitnjače, no učinak LT4 na smanjenje volumena štitnjače ima ograničeno vremensko trajanje [45].

5.6 Korelacije između fenotipova karakterističnih za HT i ostalih promatranih fenotipova

Iz rezultata prikazanih u Tablici 7 možemo vidjeti kako su pronađene blago pozitivne korelacije između TSH i svih odabranih fenotipova, osim doze Euthyroxa, u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju što je i očekivano s obzirom na to da terapija korigira povišene vrijednosti TSH koji ima potencijalni utjecaj na promatrane varijable. Najznačajnija i nešto jača korelacija TSH pronađena je sa sistoličkim i dijastoličkim tlakom, u skupinama ispitanika koji ne primaju terapiju i u skupini sa svim ispitanicima. S obzirom na to da je medijan TSH u obje promatrane skupine unutar referentnog intervala, rezultat je u skladu s prethodnim istraživanjima koja su pronašla pozitivnu linearnu povezanost između TSH (unutar referentnog raspona) i sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka [46]. Korelacija između T4 i dobi pronađena je kod ispitanika na terapiji. S obzirom na to da korelacija nije pronađena u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju, korelaciju možemo pripisati terapiji Euthyroxom koja ispravlja niske vrijednosti T4 i fT4 u serumu. U prilog tomu ide jako značajna, pozitivna korelacija T4 s dozom Euthyroxa u skupini ispitanika koji primaju terapiju kao i u skupini svih ispitanika. Sukladno tome, pronađena je pozitivna korelacija fT4 s dozom Euthyroxa u skupini sa svim ispitanicima i u skupini ispitanika na terapiji.

Jako značajne pozitivne korelacije pronađene su između broja simptoma i protutijela (TgAt i TPOAt) u skupini sa svim ispitanicima kao i u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju. U prethodnom istraživanju [33] pokazalo se kako HT pacijenti s povišenim razinama TPOAt pate od raznih općih simptoma, što je u skladu s našim istraživanjem. S obzirom na to da se gore spomenuto istraživanje odnosilo samo na TPOAt, dok se u našem istraživanju pokazala čak jača korelacija s TgAt, možemo reći da smo došli do novog, značajnog rezultata: povišene razine TgAt su korelirane s lošijim općim stanjem pacijenata, odnosno s povećanim brojem negativnih simptoma. Zanimljiva činjenica je i ta kako se u prethodno spomenutom istraživanju napominje i kako terapija ne utječe na simptome, što nije pokazano u našem istraživanju gdje kod ispitanika na terapiji nije uočena korelacija između broja simptoma i protutijela što bi upućivalo na činjenicu da terapija ima pozitivan utjecaj na simptome.

U nedavno objavljenom istraživanju uočena je blaga, ali statistički značajna pozitivna korelacija LT4 doze s TPOAt i TgAt [47]. Naši rezultati su također pokazali pozitivne i statistički značajne korelacije doze Euthyroxa s protutijelima u skupini ispitanika koji primaju

terapiju, čime su dodatno potvrdili rezultate prethodnog istraživanja. Ovaj rezultat govori u prilog teoriji da je jačina bolesti (koja se ogleda u većoj hipotireozu, odnosno većoj potrebi za nadomjesnom terapijom) korelirana s većim titrom protutijela u serumu. Ovaj i prethodni rezultat su značajni iz razloga što stavljaju naglasak na kliničku ulogu protutijela, za razliku od uvriježene dijagnostičke uloge. Zaključno, povećane razine protutijela su povezane s lošijom prognozom, odnosno lošijom kliničkom slikom koja se odražava kroz povećanje broja simptoma te slabiji rad štitnjače.

Zanimljiva je i novo pronađena pozitivna korelacija između TPOAt i dijastoličkog tlaka u skupini sa svim ispitanicima. U dosadašnjoj literaturi nismo uspjeli pronaći podatke koji govore u prilog tome. Kako je već spomenuto, subklinička hipotireoza (kao posljedica HT-a) je dokazano rizični faktor za razvoj koronarne bolesti srca, te bi to potencijalno moglo biti objašnjenje za porast dijastoličkog tlaka, s obzirom na to da pacijenti s višim titrom protutijela imaju u pravilu agresivniju bolest, odnosno možda su ti pacijenti određeno vrijeme bili u stanju subkliničke hipotireoze. Iz tog razloga smo proveli podanalizu u kojoj smo gledali povezanost TPOAt i dijastoličkog tlaka uz prilagodbu na razinu TSH, a koja je rezultirala gubitkom povezanosti, odnosno, koja je pokazala da TPOAt ipak ne utječe na dijastolički tlak.

U skladu s literaturom [48], prema kojoj se u odraslih volumen štitnjače značajno povećava sa BMI i BSA, u našem istraživanju su u skupini svih ispitanika pronađene pozitivne korelacije volumena štitnjače s BMI i BSA. Novija istraživanja su pokazala kako je ipak BSA pokazao najbolje korelacije za oba spola [49]. U našem istraživanju zanimljivo je kako su uz korelacije u skupini svih ispitanika pronađene i pozitivne korelacije volumena štitnjače s BMI u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju dok su također pozitivne korelacije volumena štitnjače s BSA pronađene u skupini ispitanika koji primaju terapiju. Negativna korelacija volumena štitnjače s dozom Euthyroxa uočena je u skupini sa svim ispitanicima, što je i u skladu s dosadašnjim saznanjima kako se klinički značajno smanjenje volumena štitnjače, povezano s normalizacijom funkcije štitnjače, može postići liječenjem HT-a levotiroksinom [50]. Jedan od zanimljivih rezultata ovog istraživanja je i taj da je kod sve tri skupine ispitanika utvrđena pozitivna korelacija volumena štitnjače s brojem simptoma. S obzirom na utvrđenu korelaciju između protutijela i broja simptoma te međusobnu veliku korelaciju između protutijela i volumena štitnjače, moguće je da ova korelacija samo odražava (reflektira) korelaciju između protutijela i broja simptoma. To smo i pokazali u dodatnoj analizi, linearnoj regresiji, gdje smo promatrali povezanost broja simptoma i volumena

štitnjače uz prilagodbu za razinu TgAt. Ova je analiza potvrdila da volumen štitnjače ipak ne utječe na broj simptoma.

5.7 Međusobne korelacije između fenotipova karakterističnih za HT

Svi dobiveni rezultati (Tablica 8) su u skladu s dosadašnjim saznanjima. Korelacije koje su očekivane pronađene su kod sve tri promatrane skupine, a to su pozitivne korelacije između TSH i hormona štitnjače te međusobne korelacije među hormonima štitnjače, kao i međusobne korelacije među protutijelima.

Potvrdili smo i povezanost protutijela s višim razinama TSH što se uklapa u prirodni tijek bolesti, jer veća razina protutijela vodi bržem razvoju hipotireoze [51]. U skupini ispitanika koja ne prima terapiju pronađene su negativne korelacije hormona štitnjače (T3, T4 i fT4) s protutijelima i volumenom štitnjače što odgovara neliječenom HT-u. U literaturi se navodi da je kod pacijenata s hipotiroidizmom visok titar protutijela na štitnjaču značajno povezan s povećanjem štitnjače, odnosno da su pacijenti s povećanjem štitnjače imali najviše vrijednosti TPOAt i TgAt u serumu [52]. U našem istraživanju su ti rezultati dodatno potvrđeni jer su kod sve tri promatrane skupine ispitanika pronađene korelacije između volumena štitnjače i protutijela.

5.8 Korelacije volumena štitnjače i podataka o pušenju

Pušenje ima značajan učinak na štitnjaču, bilo na zdrav organ ili u stanju bolesti. Brojna istraživanja su pokušala razjasniti pitanja odnosa pušenja i štitnjače kod HT-a. Za razliku od poznatog rizika za razvoj Gravesovog hipertiroidizma, dosadašnja istraživanja čak sugeriraju da pušenje štiti od autoimunog hipotiroidizma. Aktivno pušenje smanjuje rizik razvoja protutijela na štitnjaču, te time i razvoj subkliničkog autoimunog hipotireodizma. Učinak je ovisan o dozi i nestaje unutar 3 godine nakon prestanka pušenja. Obrnuta povezanost pušenja i HT-a se još treba temeljito istražiti, s obzirom na oprečna mišljenja o utjecaju pušenja na štitnjaču, pogotovo na volumen štitnjače i gušavost kod HT-a. Jedna veća meta-analiza je pokazala kako aktivno pušenje dovodi do blagog povećanja štitnjače, više kod muškaraca nego kod žena, te se taj učinak na štitnjaču uvelike smanjuje kod bivših pušača i ograničen je na područja s nedostatkom joda. Što se tiče gušavosti, došli su do zaključka kako aktivni pušači imaju veći rizik za razvoj guše i za nodularne promjene štitnjače. Učinak je ovisan o dozi te nestaje nakon prestanka pušenja. I ovaj učinak je također ograničena na područja s nedostatkom joda [53].

U našem istraživanju se pokazalo kako je volumen štitnjače kod pušača (10,19) ipak nešto veći u odnosu na nepušače (9,81) što je u suglasju sa spomenutom meta-analizom. Međutim, zanimljiv je suprotan rezultat (Tablica 9) koji pokazuje srednje jaku negativnu korelaciju između volumena štitnjače i broja cigareta (doze) kod aktivnih pušača. Korelaciju smo pronašli samo kod ispitanika na terapiji. S obzirom na oprečnost rezultata u našem istraživanju, ovo pitanje se treba još dosta detaljnije ispitati.

1. Kao najznačajniji rezultat ovog istraživanja, koji donosi nova i dosad neistražena saznanja, pronašli smo jaku pozitivnu korelaciju između TgAt i broja simptoma.
2. Detaljno smo okarakterizirali 405 ispitanika, te smo našim informacijama pridonijeli stvaranju sveobuhvatnog kliničkog prikaza ljudi koji boluju od HT-a, uzimajući u obzir: razine hormona i protutijela štitnjače, antropometrijske karakteristike, simptome hipotireoze, klasifikaciju guše, nalaz ultrazvuka štitnjače i pušačke navike.
3. Utvrdili smo postojanje razlika u medijanima fenotipova karakterističnih za HT između ispitanika koji primaju terapiju levotiroksinom i onih koji ne primaju terapiju. Kod ispitanika na terapiji smo uočili statistički značajno smanjene TSH vrijednosti, te povećanje T4 i fT4, u odnosu na ispitanike koji ne primaju terapiju. Također se pokazalo kako terapija značajno utječe na smanjene volumena štitnjače kod ispitanika na terapiji.
4. U ovom smo istraživanju dodatno potvrdili prethodno poznate korelacije između: doze Euthyroxa i protutijela (TPOAt i TgAt), TSH i sistoličkog i dijastoličkog tlaka, volumena štitnjače i BMI/BSA te volumena štitnjače i doze Euthyroxa.
5. Dodatno smo potvrdili postojanje međusobnih korelacija fenotipova karakterističnih za HT. Svi dobiveni rezultati su u skladu s dosadašnjim saznanjima. Uz očekivane korelacije koje se odnose na funkciju štitnjače i tijek bolesti, potvrdili smo i korelaciju protutijela s višim razinama TSH te korelaciju volumena štitnjače i protutijela.
6. Zaključno, dovođenjem u vezu povećane razine protutijela s povećanim brojem simptoma te slabijim radom štitnjače, naše istraživanje daje značaj prognostičkoj ulozi protutijela u daljnjem tijeku bolesti.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Garmendia Madariaga A, Santos Palacios S, Guillén-Grima F, Galofré JC. The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Mar;99(3):923-31
2. Moore E, Wilkinson S. *The Promise of Low Dose Naltrexone Therapy: Potential Benefits in Cancer, Autoimmune, Neurological and Infectious Disorders.* McFarland & Company. 2008
3. McGrogan A, Seaman HE, Wright JW, de Vries CS. The incidence of autoimmune thyroid disease: a systematic review of the literature. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008 Nov;69(5):687-96
4. Wang C, Crapo LM. The epidemiology of thyroid disease and implications for screening. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1997 Mar;26(1):189-218.
5. Kumar V. "24: The Endocrine System". *Robbins and Cotran Pathologic Mechanisms of Disease* (8th ed.). Philadelphia, PA: Elsevier. pp; 2010
6. Staii A, Mirocha S, Todorova-Koteva K, Glinberg S, Jaume JC. Hashimoto thyroiditis is more frequent than expected when diagnosed by cytology which uncovers a pre-clinical state. *Thyroid Research.* 2010 ; 3: 11
7. Guyton AC, Hall JE. *Medicinska fiziologija udžbenik* (12. izd.). Medicinska naklada. 2012
8. URL: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/hormonski-poremecaji/poremecaji-stitnjace> (preuzeto 23.5.2017)
9. Cohen-Lehman J, Dahl P, Danzi S, Klein I. Effects of amiodarone therapy on thyroid function. *Nat Rev Endocrinol.* 2010 Jan;6(1):34-41.
10. Ortiga-Carvalho TM, Sidhaye AR, Wondisford FE. Thyroid hormone receptors and resistance to thyroid hormone disorders. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Oct;10(10):582-91.
11. Bhatia SK, Rose NR, Schofield B, Lafond-Walker A, Kuppers RC. Influence of diet on the induction of experimental autoimmune thyroid disease. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1996 Dec;213(3):294-300.
12. Yehuda Shoenfeld, Ricard Cervera, M. Eric Gershwin. *Diagnostic Criteria in Autoimmune Diseases.* Springer Science & Business Media. 2010
13. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Roliński J. "Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far?". *Journal of immunology research*, vol. 2015, Article ID 979167, 8 pages, 2015.
14. Chistiakov DA. Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *J Autoimmune Dis.* 2005; 2: 1.

15. URL: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/endocrine-diseases/hashimotos-disease> (pristup: 23.5.2017)
16. URL: <http://www.physio-pedia.com/images/7/78/Goiter.jpg> (pristup: 23.5.2017)
17. Gough SC, Simmonds MJ. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Curr Genomics*. 2007 Nov; 8(7): 453–465.
18. Ueda H, Howson JM, Esposito L, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature*. 2003 May 29;423(6939):506-11.
19. Velaga MR, Wilson V, Jennings CE, et al. The codon 620 tryptophan allele of the lymphoid tyrosine phosphatase (LYP) gene is a major determinant of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Nov;89(11):5862-5.
20. Kolypetri P, King J, Larijani M, Carayanniotis G. Genes and environment as predisposing factors in autoimmunity: acceleration of spontaneous thyroiditis by dietary iodide in NOD.H2(h4) mice. *Int Rev Immunol*. 2015;34(6):542-56.
21. Desailloud R, Hober D. Viruses and thyroiditis: an update. *Virology Journal*. 2009;6:5.
22. Mori K, Nakagawa Y, Ozaki H. Does the gut microbiota trigger Hashimoto's thyroiditis? *Discov Med*. 2012 Nov;14(78):321-6.
23. Burek CL, Talor MV. Environmental triggers of autoimmune thyroiditis. *J Autoimmun*. 2009 Nov-Dec;33(3-4):183-9.
24. Chakera AJ, Pearce SH, Vaidya B. Treatment for primary hypothyroidism: current approaches and future possibilities. *Drug Des Devel Ther*. 2012; 6: 1–11.
25. Zaletel K, Gaberšček S. Hashimoto's Thyroiditis: From Genes to the Disease. *Curr Genomics*. 2011 Dec;12(8):576-88.
26. Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM et al. The incidence of thyroid disorders in the community; a twenty-year follow up of the Wickham survey. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995 Jul;43(1):55-68.
27. Dodig D, Kusić Z. *Klinička nuklearna medicina*. Medicinska naklada. 2012
28. URL: <http://www.ijem.in/viewimage.asp?img=IndianJEndocrMetab201312219109667f11.jpg> (preuzeto 23.5.2017)
29. URL: www.halmed.hr (preuzeto 1.7.2017)
30. Nuttall FQ. Body Mass Index: Obesity, BMI, and Health: A Critical Review. *Nutrition Today*. 2015;50(3):117-128.

31. Sevil Ö, Kadir K. The Evaluation of Metabolic Syndrome Parameters of Patients with Hashimoto's Thyroiditis. *Istanbul Med J* 2015; 16: 141-4
32. Campos P, Saguy A, Ernsberger P, Oliver E, Gaesser G. The epidemiology of overweight and obesity: public health crisis or moral panic? *Int J Epidemiol.* 2006 Feb;35(1):55-60.
33. Ott J, Promberger R, Kober F, et al. Hashimoto's thyroiditis affects symptom load and quality of life unrelated to hypothyroidism: a prospective case-control study in women undergoing thyroidectomy for benign goiter. *Thyroid.* 2011 Feb;21(2):161-7.
34. Pan XF, Gu JQ, Shan ZY. The prevalence of thyroid autoimmunity in patients with urticaria: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine.* 2015 Apr;48(3):804-10.
35. Samareh Fekri M, Shokoohi M, Gozashti MH, et al. Association between anti-thyroid peroxidase antibody and asthma in women. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2012 Sep;11(3):241-5.
36. Grais IM, Sowers JR. Thyroid and the Heart. *The American journal of medicine.* 2014;127(8):691-698.
37. Chen WH, Chen YK, Lin CL, Yeh JH, Kao CH. Hashimoto's Thyroiditis, Risk of Coronary Heart Disease, and L-Thyroxine Treatment: A Nationwide Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Jan;100(1):109-14.
38. Boelaert K, Newby PR, Simmonds MJ, et al. Prevalence and relative risk of other autoimmune diseases in subjects with autoimmune thyroid disease. *Am J Med.* 2010 Feb;123(2):183.e1-9.
39. Jenkins RC, Weetman AP. Disease associations with autoimmunethyroid disease. *Thyroid.* 2002 Nov;12(11):977-88.
40. Barker JM. Clinical review: type 1 diabetes-associated autoimmunity:natural history, genetic associations, and screening. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Apr;91(4):1210-7.
41. Laberge G, Mailloux CM, Gowan K, et al. Early disease onset and increased risk of other autoimmune diseases in familial generalized vitiligo. *Pigment Cell Res.* 2005 Aug;18(4):300-5.
42. Barcellos LF, Kamdar BB, Ramsay PP, et al. Clustering of autoimmune diseases in families with a high-risk for multiple sclerosis: a descriptive study. *Lancet Neurol.* 2006 Nov;5(11):924-31.
43. Erdogan M, Erdem N, Cetinkalp S, et al. Demographic, clinical, laboratory, ultrasonographic, and cytological features of patients with Hashimoto's thyroiditis:

- results of a university hospital of 769 patients in Turkey. *Endocrine*. 2009 Dec;36(3):486-90.
44. Schmidt M, Voell M, Rahlff I, et al. Long-term follow-up of antithyroid peroxidase antibodies in patients with chronic autoimmune thyroiditis (Hashimoto's thyroiditis) treated with levothyroxine. *Thyroid*. 2008 Jul;18(7):755-60.
 45. Dörr HG, Bettendorf M, Binder G, et al. Levothyroxine Treatment of Euthyroid Children with Autoimmune Hashimoto Thyroiditis: Results of a Multicenter, Randomized, Controlled Trial. *Horm Res Paediatr*. 2015;84(4):266-74.
 46. Asvold BO, Bjørø T, Nilsen TI, Vatten LJ. Association between blood pressure and serum thyroid-stimulating hormone concentration within the reference range: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Mar;92(3):841-5.
 47. Okuroglu N, Ozdemir A, Sertbas Y, Sancak S. The relationship between thyroid antibody titer and levothyroxine dose in patients with overt primary hypothyroidism. *Ann Saudi Med*. 2017 May-Jun;37(3):189-193.
 48. Barrère X, Valeix P, Preziosi P, et al. Determinants of thyroid volume in healthy French adults participating in the SU.VI.MAX cohort. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000 Mar;52(3):273-8.
 49. Turcios S, Lence-Anta JJ, Santana JL, et al. Thyroid volume and its relation to anthropometric measures in a healthy cuban population. *Eur Thyroid J*. 2015 Mar; 4(1): 55–61.
 50. Hegedüs L, Hansen JM, Feldt-Rasmussen U, Hansen BM, Høier-Madsen M. Influence of thyroxine treatment on thyroid size and anti-thyroid peroxidase antibodies in Hashimoto's thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1991 Sep;35(3):235-8.
 51. Amouzegar A, Gharibzadeh S, Kazemian E, Mehran L, Tohidi M, Azizi F. The Prevalence, Incidence and Natural Course of Positive Antithyroperoxidase Antibodies in a Population-Based Study: Tehran Thyroid Study. *PLoS One*. 2017; 12(1): e0169283.
 52. Carlé A, Laurberg P, Knudsen N, et al. Thyroid peroxidase and thyroglobulin auto-antibodies in patients with newly diagnosed overt hypothyroidism. *Autoimmunity*. 2006 Sep;39(6):497-503.
 53. Wiersinga WM. Smoking and thyroid. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013 Aug;79(2):145-51.

8. SAŽETAK

NASLOV RADA:

Fenotipska karakterizacija ispitanika oboljelih od Hashimotovog tireoiditisa

CILJEVI ISTRAŽIVANJA:

Detaljno opisati ispitivanu skupinu ljudi oboljelih od HT-a s obzirom na prikupljene fenotipove. Utvrditi postoje li razlike u medijanima fenotipova karakterističnih za HT između ispitanika koji primaju terapiju levotiroksinom i onih koji ne primaju terapiju. Utvrditi postojanje korelacija između fenotipova karakterističnih za HT i ostalih značajnih fenotipova te međusobnih korelacija između fenotipova karakterističnih za HT.

USTROJ ISTRAŽIVANJA:

Presječno istraživanje

MJESTO ISTRAŽIVANJA:

Katedra za Medicinsku biologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

MATERIJALI I METODE:

Za izradu ovog diplomskog rada su korišteni podatci koji su dobiveni u okviru HRZZ Uspostavne potpore „Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tireoiditisa“. Formirana je baza podataka o ispitanicima oboljelim od HT-a, koji su prikupljeni u KBC-U Split na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu. Korišteni su podatci o medicinskom statusu ispitanika, kliničkoj klasifikaciji guše, ultrazvuku štitnjače, terapiji te razinama hormona i protutijela štitnjače (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt). Razine hormona štitnjače (TSH, T3, T4, fT4) i razine protutijela (TgAt, TPOAt) u plazmi sudionika određene su radioimunoesej kvantitativnom metodom. Svi kvantitativni fenotipovi opisani su pomoću medijana i raspona, dok je za kategorijske fenotipove prikazan broj ispitanika i udio (tj. postotak) ispitanika koji pripadaju određenoj kategoriji. Razlike u medijanima testirane su

korištenjem neparametrijskog, Mann-Whitney testa. Za testiranje povezanosti promatranih varijabli korišten je Spearmanov test korelacije.

REZULTATI:

Okarakterizirali smo 405 ispitanika u ovom istraživanju, uzimajući u obzir razine hormona i protutijela štitnjače, antropometrijske karakteristike i pušačke navike. Kao najčešći simptom hipotireoze se javlja slabost (64,7%), a najčešći komorbiditet astma ili alergija (15,5%). Većina ispitanika (85,8%) ima difuznu bolest štitnjače, a 57,7% ispitanika se nalazi u kategoriji 1a koja predstavlja pacijente s palpabilnom štitnjačom koja se ne vidi pri istezanju vrata. Uočili smo i značajne razlike u laboratorijskim vrijednostima razine hormona i protutijela među ispitanicima na terapiji i ispitanicima koji ne primaju terapiju. Kao najznačajniju novu korelaciju koju smo pronašli, izdvajamo pozitivnu korelaciju između TgAt i broja simptoma. Ostali dobiveni rezultati su u skladu s literaturom.

ZAKLJUČAK:

Ovim radom smo, uz detaljnu karakterizaciju ispitivane skupine, dodatno potvrdili dobivene rezultate o HT-u iz prethodnih istraživanja. Prvi smo ukazali na povezanost TgAt i broja simptoma. Našim radom smo pridonijeli osvjetljavanju kliničke slike HT-a i ukazali na prognostičku ulogu protutijela na tijek bolesti.

9. SUMMARY

GRADUATE THESIS TITLE:

Phenotypic characterization of subjects with Hashimoto's thyroiditis

OBJECTIVES:

The main aim of our research was to describe in detail the group of individuals with HT regarding collected/measured phenotypes. The next objective was to determine whether there are differences in medians of HT-specific phenotypes among individuals receiving levothyroxine therapy and those who do not receive therapy. Finally, we aim to determine the correlation between phenotypes characteristic for HT and other significant phenotypes and, also, a correlation between HT-characteristic phenotypes.

DESIGN:

Cross-section study

SETTINGS:

Department of Medical Biology, University of Split School of Medicine

MATERIALS AND METHODS:

For the purposes of this graduate thesis we obtained the data from the HRZZ under the HRZZ Installation Grant " Genome-wide association analysis of Hashimoto's thyroiditis". HT patients were recruited after examination in Outpatient clinic for thyroid disorders at Department of Nuclear Medicine, University Hospital Split. The information on medical status of subjects, clinical classification of goitre, thyroid ultrasound, therapy, and levels of hormones and thyroid antibodies (TSH, T3, T4, fT4, TgAt, TPOAt) were used. Thyroid hormones (TSH, T3, T4, fT4) and antibody levels (TgAt, TPOAt) in plasma of participants were determined by radioimmunoassay method. All quantitative phenotypes are described by median and span, while for categorical phenotypes the number of subjects and the percentage

of subjects from particular category are shown. Differences in medians were tested using non-parametric, Mann-Whitney test. Spearman's correlation test was used to test the correlation of observed variables.

RESULTS:

We have characterized 405 subjects in this study, focusing on hormone levels, thyroid antibodies, anthropometric characteristics and smoking habits. The most common symptom of hypothyroidism in our study is nausea (64,7%), and the most common comorbidity is allergy or asthma (15,5%). Most of the subjects (85,8%) have a diffuse thyroid disease, while 57.7% of respondents belong in category 1a, which corresponds to palpable thyroid that is not visible at the stretching of the neck. We also noted significant differences in laboratory values of hormone levels and antibodies between respondents on therapy and non-therapeutic subjects. As the most significant finding in our study, we highlight the positive correlation between TgAt and the number of symptoms. Other results obtained are consistent with the literature.

CONCLUSION:

We performed a detailed characterization of the group of patients with HT, resulting with additional evidence and confirmations of findings from previous studies. We are the first to point to the newly discovered correlation between TgAt and the number of symptoms. Through our work we have contributed to better understanding of HT's clinical image and pointed out the prognostic value of antibodies with respect to disease severity.

Iva Anić rođena je 11. listopada 1993. u Münchenu u Saveznoj Republici Njemačkoj. S odličnim uspjehom završava Osnovnu školu „Kralja Zvonimira“ u Segetu Donjemu te opću gimnaziju „Ivan Lucić“ u Trogiru. 2012. godine upisuje Integrirani preddiplomski i diplomski studij farmacije Sveučilišta u Splitu. Stručno osposobljavanje završava u Ljekarnama Splitsko-dalmatinske županije, u ljekarničkoj jedinici Kaštel Stari, s izvrsnim preporukama. Tečno govori, piše i služi se engleskim i njemačkim jezikom.